

# Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/EP05/001818

International filing date: 22 February 2005 (22.02.2005)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: IT  
Number: TO2004A000124  
Filing date: 01 March 2004 (01.03.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 14 April 2005 (14.04.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland  
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

PCT/EP200 5 / 0 0 1 8 1 8



# Ministero delle Attività Produttive

Direzione Generale per lo Sviluppo Produttivo e la Competitività

Ufficio Italiano Brevetti e Marchi

Ufficio G2

Autenticazione di copia di documenti relativi alla domanda di brevetto per:  
INVENZIONE INDUSTRIALE N. TO 2004 A 000124 del 01.03.2004

Si dichiara che l'unita copia è conforme ai documenti originali  
depositati con la domanda di brevetto sopra specificata, i cui dati  
risultano dall'accluso processo verbale di deposito.

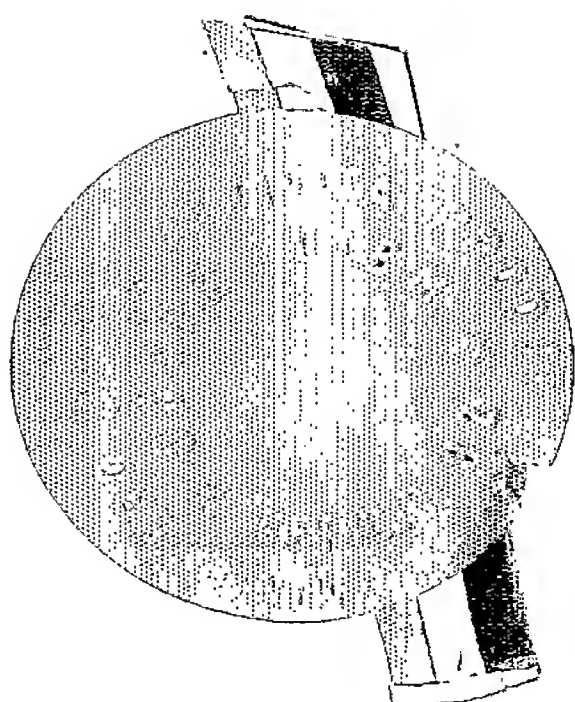
Roma, li 3.0.6.6n.2004



IL FUNZIONARIO

Giampietro Carlotta

*Giampietro Carlotta*



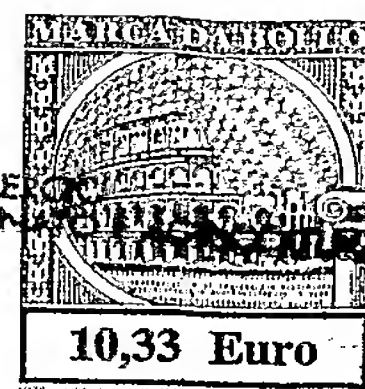
# MODULO A (1/2)

AL MINISTERO DELLE ATTIVITA' PRODUTTIVE  
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI (U.I.B.M.)

DOMANDA DI BREVETTO PER INVENZIONE INDUSTRIALE N°



CAMERA DI COMMERCIO  
INDUSTRIA ARTIGIANATO  
e AGRICOLTURA  
DI TORINO



## A. RICHIEDENTE/I

TO 2004A 000124

COGNOME E NOME O DENOMINAZIONE	A1	MEDESTEA INTERNAZIONALE S.R.L.		
NATURA GIURIDICA (PF / PG)	A2	PG	COD. FISCALE PARTITA IVA	A3 05875660010
INDIRIZZO COMPLETO	A4	VIA MAGENTA 43, 10128, TORINO, TO		
COGNOME E NOME O DENOMINAZIONE	A1			
NATURA GIURIDICA (PF / PG)	A2		COD. FISCALE PARTITA IVA	A3
INDIRIZZO COMPLETO	A4			
C. TITOLO	C1	NUOVI IMPIEGHI IN TERAPIA DI DERIVATI DI N-PIPERIDINA, PARTICOLARMENTE PER IL TRATTAMENTO DI PATOLOGIE NEURODEGENERATIVE.		

## D. INVENTORE/I DESIGNATO/I (DA INDICARE ANCHE SE L'INVENTORE COINCIDE CON IL RICHIEDENTE)

COGNOME E NOME	D1	MERIZZI GIANFRANCO
NAZIONALITÀ	D2	ITALIANA
COGNOME E NOME	D1	
NAZIONALITÀ	D2	
COGNOME E NOME	D1	
NAZIONALITÀ	D2	
COGNOME E NOME	D1	
NAZIONALITÀ	D2	

## E. CLASSE PROPOSTA

SEZIONE	CLASSE	SOTTOCLASSE	GRUPPO	SOTTOGRUPPO
E1	E2	E3	E4	E5

## F. PRIORITA'

DERIVANTE DA PRECEDENTE DEPOSITO ESEGUITO ALL'ESTERO

STATO O ORGANIZZAZIONE	F1		TIPO	F2	
NUMERO DOMANDA	F3		DATA DEPOSITO	F4	
STATO O ORGANIZZAZIONE	F1		TIPO	F2	
NUMERO DOMANDA	F3		DATA DEPOSITO	F4	
G. CENTRO ABILITATO DI RACCOLTA COLTURE DI MICROORGANISMI	G1				
FIRMA DEL / DEI RICHIEDENTE / I	CORRADO FIORAVANTI c/o Jacobacci & Partners S.p.A. (scr. No. 36384)				

I0109752

# MODULO A (2/2)

## I. MANEATARIO DEL RICHIEDENTE PRESSO L'UBM

LA/E SOTTOINDICATA/E PERSONA/E HA/HANNO ASSUNTO IL MANDATO A RAPPRESENTARE IL TITOLARE DELLA PRESENTE DOMANDA INNANZI ALL'UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI CON L'INCARICO DI EFFETTUARE TUTTI GLI ATTI AD ESSA CONNESSI, CONSAPEVOLE/I DELLE SANZIONI PREVISTE DALL'ART.76 DEL D.P.R. 28/12/2000 N.445.

NUMERO ISCRIZIONE ALBO E NOME;	I1	263BM Guido Jacobacci; 257BM Giuseppe Quinterno; 368BM Massimo Introvigne; 435BM Paolo Rambelli; 488BM Angelo Gerbino; 347BM Fabio Siniscalco; 113BM Claudio Maggioni; 90BM Francesco Serra; 553BM Corrado Fioravanti; 903BM Paolo Ernesto Crippa; 949BM Luca Gallo; 983BM Lucia Vittorangeli; 834B Giorgio Long; 859B Ilaria Simonelli; 931B Edgardo Deambrogi; 934B Diego Giugni; 940B Ferruccio Postiglione
DENOMINAZIONE STUDIO	I2	Jacobacci & Partners S.p.A.
INDIRIZZO	I3	Corso Regio Parco 27
CAP/ LOCALITA'/PROVINCIA	I4	10152 TORINO TO
L. ANNOTAZIONI SPECIALI	L1	Si allega dichiarazione sostitutiva di lettera di incarico

## M. DOCUMENTAZIONE ALLEGATA O CON RISERVA DI PRESENTAZIONE

TIPO DOCUMENTO	N.ES.ALL.	N. Es.Ris.	N. PAG. PER ESEMPLARE
PROSPETTO A, DESCRIZ., RIVENDICAZ.	1		40
DISEGNI (OBBLIGATORI SE CITATI IN DESCRIZIONE)	1		2
DESIGNAZIONE D'INVENTORE			
DOCUMENTI DI PRIORITA' CON TRADUZIONE IN ITALIANO			
AUTORIZZAZIONE O ATTO DI CESSIONE			

(SI / NO)

LETTERA D'INCARICO	NO
PROCURA GENERALE	NO
RIFERIMENTO A PROCURA GENERALE	NO

IMPORTO VERSATO ESPRESSO IN LETTERE

ATTESTATI DI VERSAMENTO	Euro	DUECENTONOVANTUNO/80
FOGLIO AGGIUNTIVO PER I SEGUENTI PARAGRAFI (BARRARE I PRESCELTI)	A	D F
DEL PRESENTE ATTO SI CHIEDE COPIA AUTENTICA ? (SI/NO)	SI	
SI CONCEDE ANTICIPATA ACCESSIBILITA' AL PUBBLICO? (SI/NO)	NO	
DATA DI COMPILAZIONE	01/03/2004	

FIRMA DEL / DEI RICHIEDENTE / I

*Corrado Fioravanti* CORRADO FIORAVANTI c/o Jacobacci & Partners S.p.A.  
Back No 753BM

I0109752

VERBALE DI DEPOSITO			
NUMERO DI DOMANDA	TO 2004A000124		
C.C.I.A.A. DI	TORINO	Cod.	01
IN DATA	01/03/2004	,IL/I RICHIEDENTE/I SOPRAINDICATO/I HA/HANNO PRESENTATO A ME SOTTOSCRITTO	
LA PRESENTE DOMANDA, CORREDATA DI N.	00	FOGLI AGGIUNTIVI, PER LA CONCESSIONE DEL BREVETTO SOPRA RIPORTATO.	
N. ANNOTAZIONI VARIE DELL'UFFICIALE ROGANTE			
IL DEPOSITANTE	CAMERA DI COMMERCIO INDUSTRIA ARTIGIANATO E AGRICOLTURA DI TORINO DELL'UFFICIO	L'UFFICIALE ROGANTE	

*Dino Chiale* *Mirella Cavallari*

Mirella CAVALLARI  
CATEGORIA C



**PROSPETTO MODULO A**  
DOMANDA DI BREVETTO PER INVENZIONE INDUSTRIALE

NUMERO DI DOMANDA:

DATA DI DEPOSITO:

01/03/2004

A. RICHIEDENTE/COGNOME E NOME O DENOMINAZIONE, RESIDENZA O STATO;

MEDESTEA INTERNAZIONALE S.R.L., 10128 TORINO, TO

**C. TITOLO**

NUOVI IMPIEGHI IN TERAPIA DI DERIVATI DI N-PIPERIDINA,  
PARTICOLARMENTE PER IL TRATTAMENTO, DI PATOLOGIE NEURODEGENERATIVE

SEZIONE

CLASSE

SOTTOCLASSE

GRUPPO

SOTTOGRUPPO

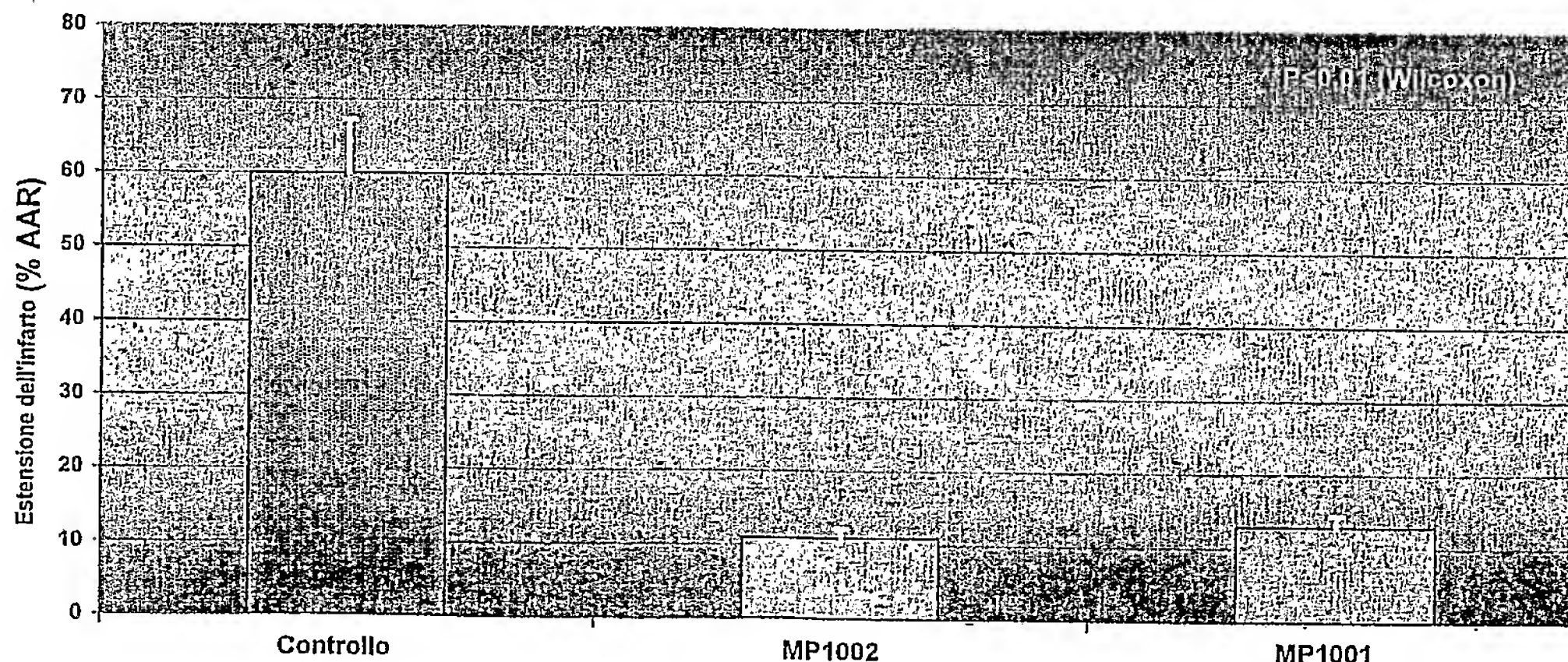
**E. CLASSE PROPOSTA**

**F. RIASSUNTO**

La presente invenzione si riferisce a composti chimici, a composizioni farmaceutiche e veterinarie e all'uso di tali composizioni per il trattamento o la prevenzione di patologie e sindromi neurodegenerative quali morbo di Parkinson, morbo di Alzheimer, lesione da ischemia e riperfusione, lesioni cerebrali traumatiche, neuropatia da HIV, sindrome di Down, polineuropatia diabetica, distrofia muscolare, sclerosi multipla, morbo di Huntington, malattia prionica, discinesia tardiva, tauopatia e patologie demielinanti, ed altre patologie che minacciano la vita, come ischemia-riperfusione cardiaca/renale/polmonare/epatica/intestinale, ipertensione, diabete, cancro, shock, tossicità da farmaci e radiazioni (radioterapia e radioprotezione), stati infiammatori, aterosclerosi, invecchiamento, iperlipidemie, ipercolesterolemie, epilessia e artrite reumatoide, tutte notoriamente associate ad un eccesso di produzione di radicali liberi reattivi. Più particolarmente la presente invenzione si riferisce a composizioni contenenti (bis)-idrossilammine cicliche antiossidanti derivate dalla N-piperidina, quali composizioni farmaceutiche atte alla prevenzione e cura di patologie nell'uomo e nell'animale.

**P. DISEGNO PRINCIPALE**

Fig.1 - EFFETTI DEGLI ANTIOSSIDANTI MP1002 E MP1001 SULL'ESTENSIONE DELL'INFARTO MIOCARDICO DOPO OCCLUSIONE E RIPERFUSIONE DELL'ARTERIA CORONARIA DISCENDENTE ANTERIORE SINISTRA (LAD) NEL RATTO



Ciascun valore rappresenta la media  $\pm$  SD di almeno quindici diversi esperimenti. I diversi gruppi di animali sono stati sottoposti ad occlusione LAD ed hanno ricevuto 5 minuti dopo l'inizio della riperfusione il veicolo (soluzione salina - controllo), MP1002 o MP1001

FIRMA DEL / DEI  
RICHIEDENTE / I

GIOVANNI FIORAVANTI c/o Jacobacci & Partners S.p.A.

I0109752

CAMERA DI COMMERCIO  
INDUSTRIA ARTIGIANATO E AGRICOLTURA  
DI TORINO

DESCRIZIONE dell'invenzione industriale dal titolo:

"Nuovi impieghi in terapia di derivati di N-piperidina, particolarmente per il trattamento di patologie neurodegenerative"

Di: MEDESTEA INTERNAZIONALE S.r.l., nazionalità italiana, Via Magenta, 43, 10128 TORINO

Inventore designato: Gianfranco MERIZZI

Depositata il: - 1 MAR 2004

\*\*\*

TO 2004A 000124

DESCRIZIONE

E' noto come i radicali liberi centrati sull'ossigeno (ROS) e sull'azoto (RNS) siano regolarmente generati durante la respirazione cellulare ed il normale metabolismo svolgendo importanti funzioni fisiologiche quali ad esempio secondi messaggeri nell'induzione di processi cellulari (Suzuki H.J. *Free Rad. Biol. Med.* 22, 269-285, 1977; Clement M.V. & Pervaiz S. *Free Rad. Res.* 30, 247-2525, 1999).

E' inoltre noto come siano numerosi e crescenti i processi patologici associati ad un aumento della generazione di specie reattive radicaliche come l'anione superossido ( $O_2^{\bullet-}$ ), il radicale peridrossilico ( $HO_2^{\bullet-}$ ), il radicale idrossilico ( $HO^{\bullet}$ ), l'ossi-

PR/cp

JACOBACCI & PARTNERS S.p.A.

geno singoletto ( $^1\text{O}_2$ ), il perossido di idrogeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), l'ossido nitrico ( $\text{NO}^\bullet$ ), il biossido di azoto ( $\text{NO}_2^-$ ), il perossinitrito e altri radicali ( $\text{R}^\bullet$ ) (alchil- $\text{L}^\bullet$ , alcossi- $\text{LO}^\bullet$ , perossiradicali- $\text{LOO}^\bullet$ , ecc.).

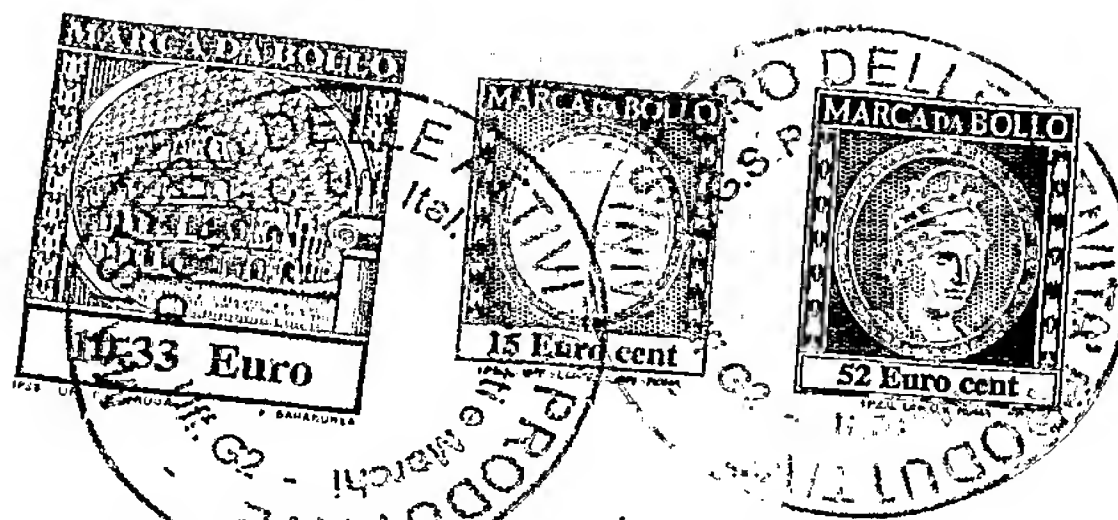
I radicali prodotti in eccesso, saturando il macchinario antiossidante costituito sia da sistemi enzimatici (superossido dismutasi, glutathione perossidasi, catalasi, glutathione reduttasi) sia da sistemi non enzimatici idrofili e lipofili (ubichinone, ubichinolo, vitamina E, vitamina C, vitamina A, glutathione ridotto, acido urico, carotenoidi, ecc.), generano il tanto conclamato "stato di stress ossidativo" (OSS) responsabile della morte cellulare e danno tissutale: l'attacco radicalico può determinare un ulteriore incremento di ROS, RNS e  $\text{R}^\bullet$ , ovvero dello OSS, con una conseguente esacerbazione del danno ossidativo iniziale (Diaz M.D. et al. *New Engl. J. Med.* 331, 408-416, 1997; Cerutti P.A. *The Lancet* 344, 862-863, 1994; Giacosa A. & Filiberti R. *Eur. J. Cancer Prev.* 5, 307-312, 1996; Bruce N.A. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 90, 1915-1922, 1993; Albens L. et al. *J. Neural Transm. (Suppl.)* 59, 133-154, 2000; Foley M. et al. *J. Neurol. (Suppl. 2)* 247, II82-94, 2000; Huang Z. et al.

*Can. J. Neurol. Sci. (Suppl. 1)* 30, S10-18, 2003;  
 He Y. et al. *J. Neurochem.* 86, 1338-1345, 2003; Gao  
 H.M. et al. *Trends Pharmacol. Sci.* 24, 395-401,  
 2003; Sekhon B. et al. *Brain Res.* 971, 1-8, 2003;  
 Nedelykovic Z.S. et al. *Postgrad. Med. J.* 79, 195-  
 198, 2003; Arbiser J.L. *Nat. Med.* 9, 1103-1104,  
 2003; see also Medline® and Toxline®).

E' ulteriormente noto il tentativo di attenuare  
 la cascata di eventi che determina lo OSS mediante  
 differenti approcci terapeutici ciascuno con inevi-  
 tabili problemi che ne precludono o limitano l'uso  
 nell'uomo o nell'animale. Gli agenti chelanti, ad  
 esempio, possono catalizzare indesiderate reazioni  
 redox nelle cellule, dissociano facilmente o perdo-  
 no attività in seguito a legami con molteplici com-  
 ponenti cellulari (Ikeda Y. et al. *Neurosurgery* 24,  
 820-824, 1989; White B.C. & Krause G.S. *Ann. Emerg.*  
*Med.* 22, 970-979, 1993).

L'uso dell'enzima superossido dismutasi, a par-  
 te il fattore limitante legato alla saturazione en-  
 zimatica ( $\leq$  turnover number) ed alla singola specie  
 reattiva ( $O_2^{\bullet-}$ ) dismutata nel più complesso e dina-  
 mico mondo dello OSS, pone problemi di stabilità  
 (anche incluso in liposomi) con un'emivita variabi-  
 le tra pochi minuti ed alcune ore a seconda del ti-





po, non passa le membrane cellulari né tanto meno la barriera ematoencefalica ed è immunogenica (anche se il recente uso di forme ricombinanti umane r-h-MnSOD sembra incoraggiante) (Mikawa S. et al. *J. Neurosurg.* 85, 885-891, 1996; Kontos H.A. & Wei E.P. *J. Neurosurg.* 64, 803-807, 1986; Chan P.H. et al. *Ann. Neur.* 21, 540-547, 1987); non è senza significato il fatto che un recente trial randomizzato e multicentrico che ha previsto l'uso della glycol-coniugato superossido dismutasi (Pegorgotein®) nei traumi cranici chiusi inevitabilmente non ha fornito risultati attesi (Young B. et al. *JAMA* 276, 538-543, 1996).

Alcune delle limitazioni legate all'impiego dell'enzima nativo, come ad esempio la permeabilità cellulare - con particolare riferimento alla barriera ematoencefalica - e la somministrazione, sono state superate mediante l'impiego di composti organici (ad esempio M40401® o M40403®) a basso peso molecolare con attività catalitica-dismutasi ad esempio verso il superossido (SOD mimetics) (vedasi i brevetti statunitensi nn. 5 874 421, 5 637 578 e 5 696 109; le domande internazionali WO02/28390 e WO02/058686; Samilowski W.E. et al. *Nat. Med.* 9, 750-755, 2003) o, addirittura, l'uso della porzione

attiva isolata dell'enzima (brevetto statunitense n.6 117 454).

Tuttavia, anche queste strategie non possono non avere che una limitata efficacia in quanto riproducendo l'attività dell'enzima nativo a livello molecolare, di fatto agiscono ancora su una sola specie radicalica ( $O_2^{\bullet-}$ ) risultando quindi totalmente inattive nei confronti degli altri ROS, RNS e  $R^{\bullet}$  che determinano lo OSS complessivo. Ad oggi, farmaci che necessitano il passaggio attraverso la membrana ematoencefalica, e che hanno difficoltà o non sono in grado di attraversarla, debbono essere somministrati mediante infusione diretta nel SNC o mediante l'impianto di polimeri a rilascio controllato, con problemi facilmente immaginabili (vedi ad esempio il brevetto statunitense n.4 883 666).

Ulteriori molecole proposte sono i cosiddetti "spin-trapping scavenging agents" come, ad esempio, gli azulenyl nitrones, l'NXY-059 e soprattutto l'alfa-fenil-tert-butil-nitrone (PBN) che ha dato risultati soddisfacenti in diverse patologie (Rachnilewitz D. et al. *Gut* 35, 1181-1188, 1994; Krishna M.C. et al. *J. Biol. Chem.* 271, 26018-26025, 1996; Gilgun-Sherki Y. et al. *Pharmacol. Rev.* 54,

271-284, 2002). Ancora una volta, l'azione è però limitata a poche specie radicaliche, in quanto, sebbene l'azione sui radicali centrati sul carbonio ( $C^\bullet$ ) determini un addotto relativamente stabile, il legame con quelli centrati sull'ossigeno è del tutto insoddisfacente: basti pensare, ad esempio, che l'emivita dell'addotto tra il temibile radicale idrossile ( $HO^\bullet$ ) e il PBN è di appena 40 secondi (Jansen F.G. et al. *Free Rad. Biol. Med.* 12, 169-173, 1992).

Questi nitrossidi non persistenti dopo frammentazione originano inoltre altre specie radicaliche in grado di propagare o iniziare la reazione di autoossidazione. Il PBN non lega inoltre i radicali centrati sull'azoto (RNS) (Hensley K. et al. *Int. Rev. Neurobiol.* 40, 299-317, 1997). Spin traps dotati di maggiore stabilità *in vitro* (Tempo, Tempol) in grado di legare radicali superossido ( $O_2^{\bullet-}$ ) ed idrossile ( $HO^\bullet$ ), di autorigenerarsi (non hanno cioè un'azione suicida come i comuni antiossidanti) e di bloccare simultaneamente la reazione di Fenton, ovvero capaci di terminare le reazioni radicaliche sono stati realizzati (Samuni et al. *Biochemistry* 30, 555-561, 1991; Samuni et al. *J. Clin. Invest.*

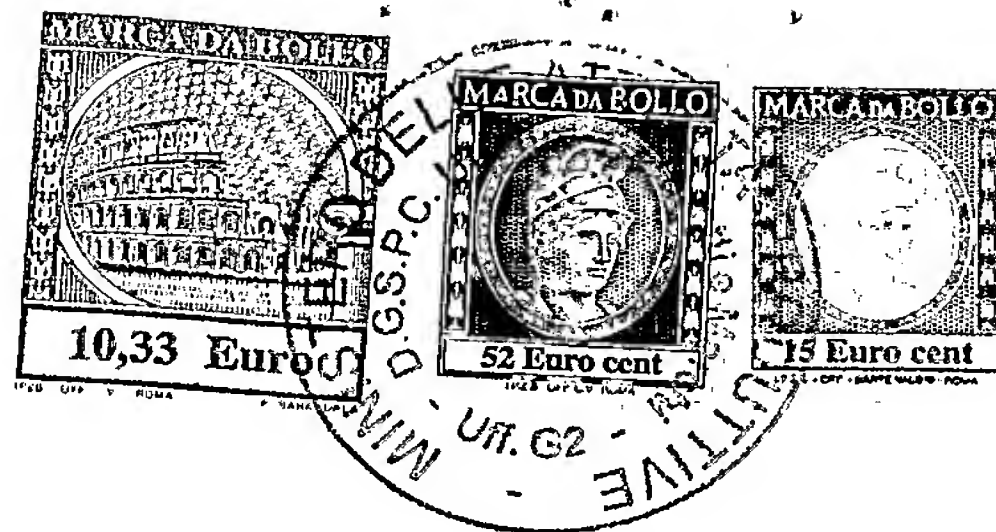
87, 1526-1530, 1991; Li H. et al. *Free Rad. Biol. Med.* 32, 712-719, 2002; Krishma M.C. et al. *J. Biol. Chem.* 271, 26026-26031, 1996). Tuttavia, l'azione protettiva di queste molecole *in vivo* è limitata sia dalla loro tossicità sia dalla loro emivita inferiore ai 3 minuti (Laight D. et al. *Br.J. Pharmacol.* 124, 238-244, 1988).

Al fine di superare queste difficoltà, questi spin-traps vengono infatti utilizzati *in vivo* in associazione ad una macromolecola polinitrossilata (polynyetroxyl human serum albumin, PNA) che ne riduce la tossicità, permette il "recycling" e, mantenendo bassa la dose di impiego, impedisce effetti vasodilatanti (Kupposomi P. et al. *Biochemistry* 35, 7051-7057, 1996; Kupposomi P. et al. *Magn. Res. Med.* 40, 806-811, 1998); ovviamente, date le notevoli dimensioni, queste macromolecole funzionano solo negli spazi extracellulari.

Recentemente, nel brevetto statunitense n.5 981 548 sono state descritte composizioni farmaceutiche comprendenti idrossilammine cicliche, derivate da N-piperidina, per il trattamento di malattie connesse con una produzione in eccesso di radicali liberi.

Un primo aspetto della presente invenzione si





fonda sul riconoscimento del fatto che idrossilamine cicliche derivate da N-piperidina, descritte nel sopra citato brevetto statunitense n.5 981 548, sono in grado di attraversare la barriera ematoencefalica e possono così essere utilizzate nel trattamento terapeutico e di profilassi di malattie neurodegenerative.

Nell'ambito dell'invenzione, sono stati inoltre individuati altri composti derivati da N-piperidina, aventi attività farmaceutica nel trattamento di diverse patologie, indicate nel seguito, per i quali non risulta fino ad oggi essere stato proposto un impiego in campo farmaceutico.

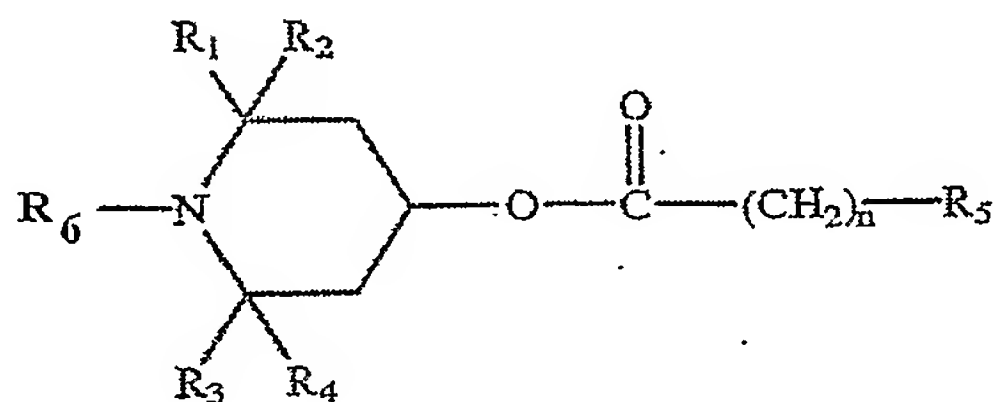
In relazione a tali ulteriori composti, la presente invenzione fornisce nuovi impieghi in terapia e profilassi che risultano dall'individuazione di inaspettate loro proprietà, quali in particolare un'elevata capacità di reagire con i differenti tipi di radicali liberi terminando le reazioni radicaliche, la capacità di attraversare con facilità il doppio strato lipoproteico delle membrane cellulari (con particolare riferimento alla barriera ematoencefalica), l'elevata capacità di distribuzione all'interno dei tessuti permettendo così di ottenere un'elevata concentrazione della sostanza at-

tiva nel distretto corporeo dove è richiesta la protezione antiossidante e la capacità di autorigenerarsi (self-replenishing antioxidants) e prevenire la reazione di Fenton attraverso l'ossidazione di ioni metallici.

Un ulteriore scopo della presente invenzione è preferibilmente quello di fornire nuovi impieghi terapeutici in relazione ad una classe di composti che, oltre a tutti i vantaggi di cui sopra, risultino non tossici, non-immunogenici, stabili e di facile preparazione in grandi quantitativi a basso costo.

I nuovi impieghi terapeutici e le composizioni farmaceutiche oggetto dell'invenzione sono definiti nelle rivendicazioni che seguono.

In particolare, i nuovi impieghi in ambito farmaceutico, descritti in maggior dettaglio nel seguito, sono riferiti ad una classe di composti di formula (I):

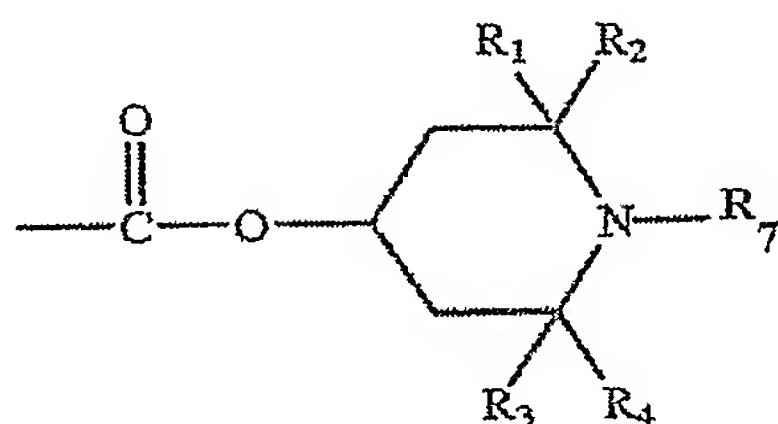


(I)

in cui  $R_6$  è ossile, idrogeno o ossidrile,  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  e  $R_4$  sono scelti indipendentemente l'uno dall'altro tra:

- idrogeno
- alchile con da 1 a 12 atomi di carbonio, preferibilmente da 1 a 6 atomi di carbonio e più preferibilmente da 1 a 3 atomi di carbonio,
- alchenile con da 2 a 12 atomi di carbonio, preferibilmente da 2 a 6 atomi di carbonio e più preferibilmente da 2 a tre atomi di carbonio,
- alchinile con da 2 a 12 atomi di carbonio, preferibilmente da 2 a 6 atomi di carbonio e più preferibilmente da 2 a tre atomi di carbonio, oppure
- $R_1$  e  $R_2$  formano assieme un gruppo tetrametilene o pentametilene;
- $R_5$  è idrogeno,
- alchile con da 1 a 12 atomi di carbonio, preferibilmente da 1 a 6 atomi di carbonio e più preferibilmente da 1 a 3 atomi di carbonio,
- cicloalchile con da 3 a 8 atomi di carbonio,
- alchenile con da 2 a 12 atomi di carbonio, preferibilmente da 2 a 6 atomi di carbonio e più preferibilmente da 2 a 3 atomi di carbonio,
- alchinile con da 2 a 12 atomi di carbonio, preferibilmente da 2 a 6 atomi di carbonio e più pre-

feribilmente da 2 a 3 atomi di carbonio,  
oppure



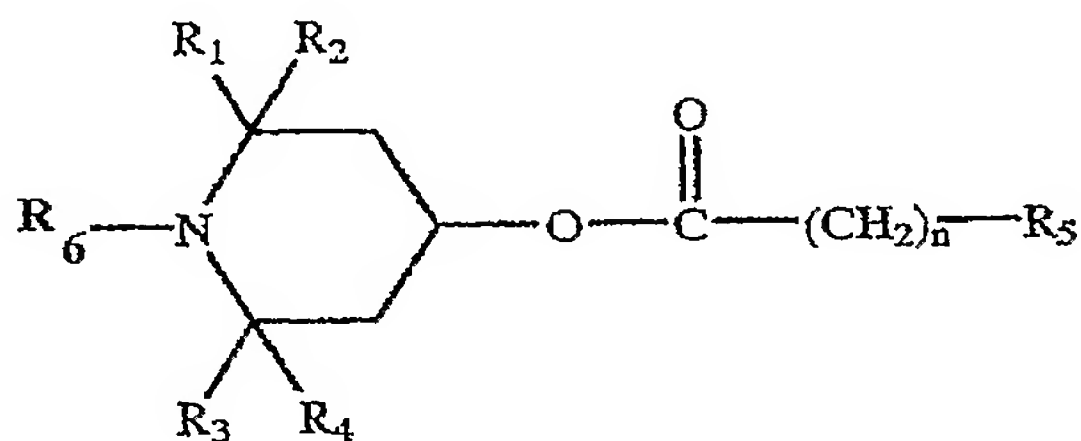
(II)

in cui

R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> e R<sub>4</sub> sono come precedentemente definiti, n è un intero da 1 a 30, più preferibilmente da 2 a 14 e ancor più preferibilmente da 6 a 10,

R<sub>7</sub> è idrogeno, ossile o ossidrile.

Un gruppo di composti preferiti ed illustrativi della presente invenzione sono composti di formula:

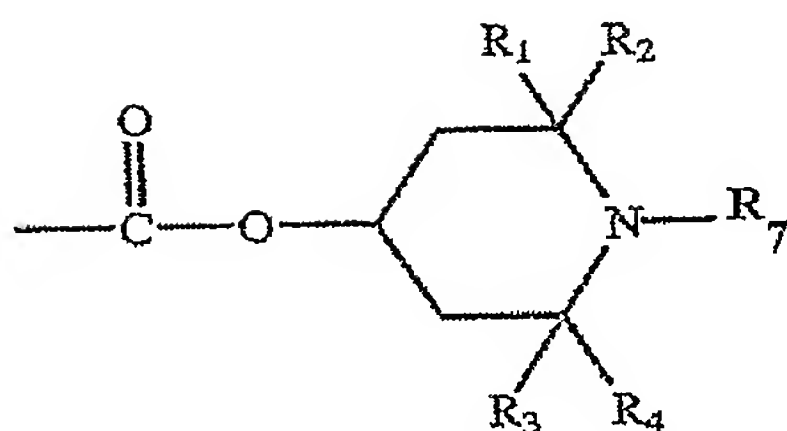


in cui

R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> e R<sub>4</sub> sono alchile avente da 1 a 3 atomi di carbonio,

R<sub>5</sub> è





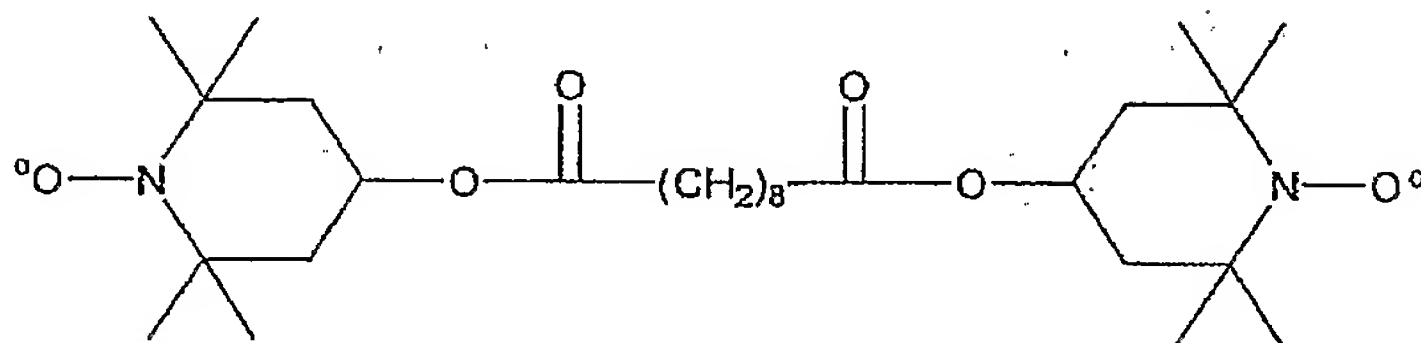
(II)

in cui

$R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  e  $R_4$  sono alchile avente da 1 a 3 atomi di carbonio,

$n$  è un intero da 1 a 10 ed almeno uno di  $R_6$  o  $R_7$  è ossile e l'altro di  $R_6$  o  $R_7$  è ossile o ossidri-  
le;

in particolare è particolarmente preferito l'impiego di un composto di formula:



denominato: bis(1-ossile-2,2,6,6-tetrametil-4-piperidinil)decandioato.

Il termine "alchile con da 1 a 12 atomi di carbonio" denota un gruppo sostituyente derivato da un idrocarburo saturo mediante rimozione di un singolo atomo di idrogeno. Il termine include metile, etile, n-propile, n-butile, sec-butile, iso-butile,

tert-butile e le diverse forme isomeriche di pentile, esile, eptile, ottile, nonile, decile, undecile e dodecile.

I termini "alchenile avente da 2 a 12 atomi di carbonio" e "alchenile con da 2 a 12 atomi di carbonio" indicano gruppi sostituenti derivati, rispettivamente, da idrocarburi di alchene ed alchino mediante rimozione di un singolo atomo di idrogeno. Questi termini includono etenile, etinile, propenile, propinile e simili gruppi idrocarburici insaturi ramificati e non ramificati, aventi fino a 12 atomi di carbonio.

Il termine "cicloalchile avente da 3 a 8 atomi di carbonio" indica anelli carbociclici saturi, quali ciclopropile, ciclobutile, ciclopentenile, cicloesile, nonché anelli carbociclici sostituiti con alchile che contengono fino a 8 atomi di carbonio come ad esempio metil-, dimetil- ed etilcicloesile.

I composti N-ossil e N-idrossil derivati possono essere preparati mediante processi descritti nei brevetti statunitensi nn. 4 691 015 e 5 981 548 a partire dagli N-H derivati.

In particolare, gli N-ossil derivati sono ottenuti dal corrispondente N-H derivato mediante rea-

zione con acido m-cloroperbenzoico. Il derivato N-ossil può essere convertito nel corrispondente N-idrossi derivato mediante idrogenazione catalitica, ad esempio utilizzando  $PtO_2$  come catalizzatore.

Come precedentemente indicato, un oggetto dell'invenzione è l'impiego dei composti sopra citati per la preparazione di medicinali, composizioni farmaceutiche o veterinarie, per il trattamento (inibizione, prevenzione, profilassi e terapia) di sindromi e patologie neurodegenerative, quali morbo di Parkinson, morbo di Alzheimer, lesioni encefaliche da ictus, lesioni cerebrali traumatiche, neuropatia da HIV, sindrome di Down, polineuropatia diabetica, distrofia muscolare, sclerosi multipla, morbo di Huntington, malattia prionica, discinesia tardiva, tauopatia, patologie demielinanti e sindrome di Lou Gherig.

Inoltre, l'invenzione riguarda l'impiego dei composti citati per la preparazione di composizioni farmaceutiche o veterinarie e di medicinali per il trattamento terapeutico, di prevenzione e/o profilassi di patologie mortali, quali ischemia-riperfusione cardiaca/renale/polmonare/epatica/intestinale, ipertensione, diabete, cancro ed inoltre di shock, fibrosi cistica, infezioni da virus, tossi-

JACOBBACCI & PARTNERS S.p.A.

cità da farmaci e radiazioni (ad esempio radioterapia o radioprotezione più in generale), infiammazione, aterosclerosi, invecchiamento, artrite reumatoide, epilessia, ipercolesterolemia, iperlipidemia, nonché nel trattamento del dolore e sepsi, patologie associate ad un eccesso di produzione di radicali liberi.

Nell'utilizzo in ambito farmaceutico o veterinario, i composti secondo la presente invenzione vengono somministrati al soggetto a livelli di dose compresi nell'intervallo tra 0,01 e 1 g/kg di peso corporeo, preferibilmente da 0,1 a 200 mg/kg e più preferibilmente in un intervallo compreso tra 0,5 e 20 mg/kg di peso corporeo in una o più somministrazioni giornaliere.

Gli specifici dosaggi utilizzati, tuttavia, potranno variare dipendentemente dalla necessità del paziente o dell'animale, dalla severità delle patologie in necessità di trattamento (dall'età, dal sesso, dalla dieta, dalla via di somministrazione e da considerazioni farmacologiche quali l'attività del composto da utilizzare, l'efficacia, il profilo farmacocinetico e tossicologico del composto prescelto, l'eventuale associazione con altri farmaci, ecc.). La determinazione del dosaggio ottimale fa





parte delle possibilità di scelta del tecnico del ramo.

Per la preparazione di composizioni farmaceutiche o veterinarie, comprendenti almeno uno dei composti secondo la presente invenzione, potranno essere utilizzati veicoli farmaceuticamente accettabili sia in forma solida sia in forma liquida.

Le vie di somministrazione comprendono oltre alla somministrazione orale e parenterale, le somministrazioni per via inalatoria e dermatologica (topica).

Le preparazioni solide includeranno, ad esempio, polveri, compresse, granuli, capsule, cachet e supposte.

Un veicolo solido può essere costituito da una o più sostanze che possono agire anche come agenti diluenti, aromatizzanti, solubilizzanti, lubrificanti, agenti sospendenti, leganti, o disgreganti le compresse; può anche essere usato materiale incapsulato.

Nelle polveri, il veicolo è costituito da un solido finemente suddiviso, che si trova in miscela con almeno un composto attivo. Nelle compresse, il principio attivo è miscelato con il veicolo avente le necessarie proprietà leganti, in proporzioni a-

datte e compattato nella forma e dimensione desiderata. Le polveri e le compresse contengono preferibilmente tra il 7 e il 70% in peso del principio attivo.

Veicoli adatti sono rappresentati principalmente da carbonato di magnesio, stearato di magnesio, talco, lattosio, zucchero, pectina, destrina, amido di mais, metilcellulosa, carbossimetilcellulosa di sodio, cere a basso punto di fusione, burro di cocco, e simili.

Potranno essere utilizzate compresse, polveri, cachet e capsule, come forme di dosaggio adatte alla somministrazione orale.

Preparazioni sotto forma liquida includono le soluzioni adatte alla somministrazione parenterale (iniezioni subcutanee, intravenose, intramuscolari, intrasternali, o tecniche di infusione) od orale, oppure sospensioni ed emulsioni adatte alla somministrazione orale. Possono essere menzionati come esempi di preparazioni liquide adatte alla somministrazione parenterale sia soluzioni acquose sterili del principio attivo, che soluzioni sterili del principio attivo in solventi comprendenti acqua, etanolo, o glicole propilenico.

Soluzioni sterili possono essere preparate dis-

solviendo il principio attivo nel desiderato sistema solvente, e quindi passando la risultante soluzione attraverso un filtro a membrana al fine di sterilizzarlo alternativamente, dissolvendo il composto sterile in un solvente precedentemente sterilizzato, in condizioni sterili.

Possono essere preparate soluzioni acquose per la somministrazione orale dissolvendo il principio attivo in acqua e addizionando opportuni agenti coloranti, aromatizzanti, stabilizzanti, ammassanti, nella quantità desiderata.

Le sospensioni acquose per l'utilizzo orale possono essere preparate disperdendo il principio attivo finemente suddiviso in acqua insieme con materiale viscoso come le gomme naturali o sintetiche, le resine, la metilcellulosa, la carbossimetilcellulosa di sodio, ed altri agenti sospendenti noti nella tecnica delle formulazioni farmaceutiche o veterinarie.

Preferibilmente, la preparazione farmaceutica o veterinaria è sotto forma di singola unità di dosaggio, contenente preferibilmente da 1 a 300 mg. Sotto tale forma la preparazione viene divisa in dosi unitarie contenenti quantità appropriate del principio attivo. Detta singola unità di dosaggio

può essere costituita da una preparazione confezionata contenente compresse, capsule e polveri in fiale od ampolle.

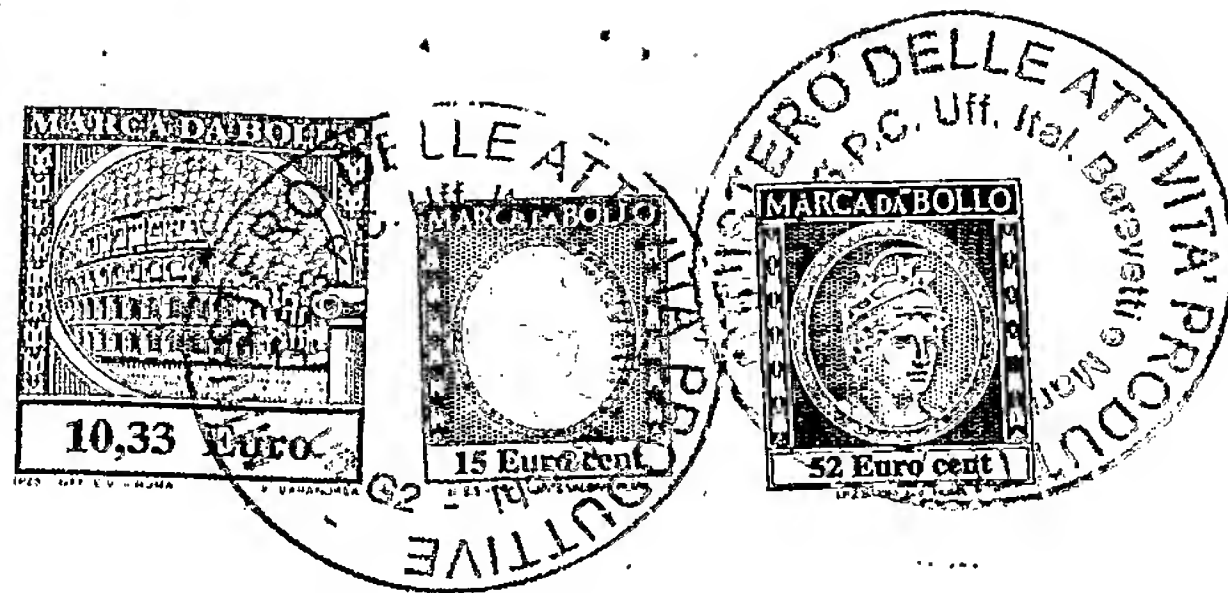
Le composizioni farmaceutiche dell'invenzione sono da utilizzarsi preferibilmente nell'uomo. Tuttavia, essendo utili per uso umano, possono essere altrettanto utili per l'impiego in ambito veterinario per animali da compagnia, animali esotici e animali da fattoria, incluso mammiferi, uccelli, roditori, ecc.. Più preferibilmente gli animali quali cani e gatti, nonché bovini, ovini e suini.

I seguenti esempi potranno permettere ad un esperto del ramo di realizzare l'invenzione. Essi saranno quindi illustrativi dell'invenzione e sono stati inclusi solo come indicazione e non come una limitazione. Viene pertanto riportato l'uso dell'invenzione sia in un modello del morbo di Parkinson come esempio di disordine neurodegenerativo, sia in un modello di ischemia-riperfusione miocardica come esempio di malattia che minaccia la vita.

#### Esempio 1

Sebbene la sindrome di Parkinson (SP) sia stata descritta per la prima volta nel 1817 da James Parkinson come una "shaking palsy" di origine sconosciuta (vi sono tuttavia evidenze di sindrome par-





kinsoniana datate addirittura migliaia di anni fa), la sua eziologia è ancora piuttosto oscura.

In aggiunta all'età, è vivo il dibattito scientifico a livello internazionale sul ruolo di fattori genetici ed ambientali nell'origine della SP (Huang Z. et al. *Can. J. Neur. Sci.* 30 Suppl. 1, 510-518, 2003; Daner W. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 99, 14524-14529, 2002; Vaughan J.R. et al. *Am. Hum. Gen.* 65, 111-126, 2001; Thiruchelvam M. et al. *Neurotoxicology* 23, 621-633, 2002; Scott W.K. et al. *JAMA* 286, 2239-2244, 2001; Warner T.T. & Schapira A.H. *Am. Neurol.* 53 Suppl. 3, 516-523, 2003). Notevole impulso alle ricerche in ambito ambientale è stato fornito a metà dei primi anni ottanta dalla scoperta che specifiche neurotossine come la n-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetraidropiridina (MTPT) possono causare il parkinsonismo nell'uomo e nell'animale; da allora, numerosi sono i pesticidi scoperti riprodurre la SP nel modello animale (Be-  
tarbert R. et al. *Nat. Neurosci.* 3, 1301-1306, 2000; Kirbi M.L. et al. *Toxicol. Sci.* 61, 100-106, 2001; Yumino K. et al. *J. Biochem. (Tokyo)* 131, 565-570, 2002; Gao et al. *J. Neurosci.* 23, 6181-6187, 2003). Non è senza significato il fatto che le meta-analisi degli studi caso-controllo disponi-

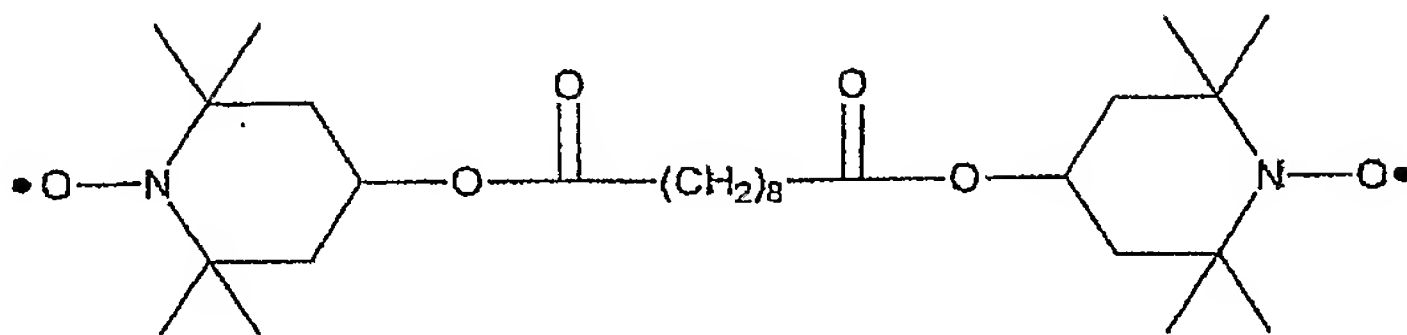
bili suggeriscono l'esistenza di un'associazione tra esposizione a pesticidi e SP (Priyadarshi A. et al. *Neurotoxicology* 21, 435-440, 2000; Priyadarshi A. et al. *Environ. Res.* 86, 123-127, 2001).

Numerose evidenze sperimentali dimostrano che l'erbicida paraquat (che ha una struttura chimica simile al MPTP) è coinvolto nella patogenesi della SP: sia la microinfusione di paraquat nella *Substantia Nigra* dell'animale sia il trattamento per via sistemica o intraperitoneale, determina una selettiva degenerazione di neuroni dopaminergici accompagnata da segni, comportamentali e neuropatologici, di una severa neurotossicità non selettiva (Brooks A.I. et al. *Brain Res.* 823, 1-10, 1999; Thiruchelvam M. et al. *Neurotoxicology* 23, 621-633, 2002; McCornack A.L. et al. *Neurobiol. Dis.* 10, 119-127, 2002) attribuita ad un eccesso di radicali liberi reattivi-OSS (Jannone N. et al. *Neuropharmacology* 30, 893-898, 1991; Klivenyi G. et al. *Neurobiol. Dis.* 5, 253-258, 1998; Foley M. et al. *J. Neurol.* 247 Suppl. 2, II82-94, 2000).

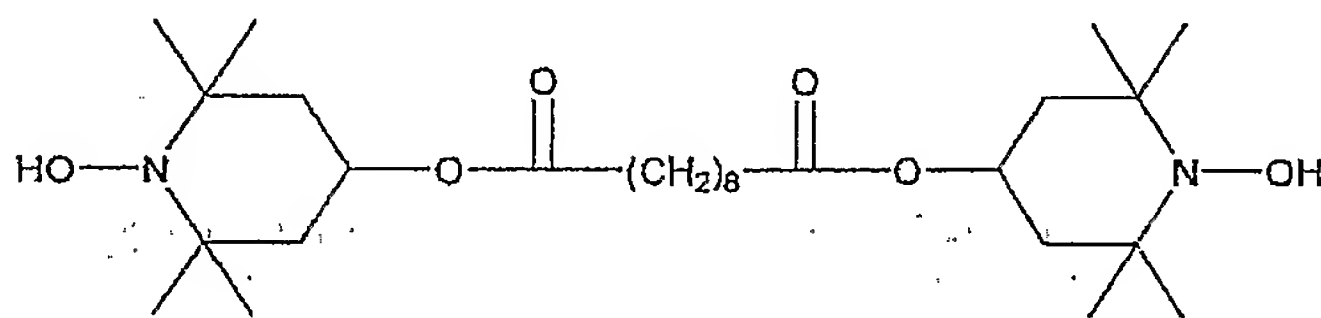
Il modello sperimentale paraquat/ratto/SP è stato pertanto selezionato quale il più indicativo per la verifica dell'efficacia di composti chimici secondo la presente invenzione; di questi, due an-

tiossidanti denominati MP1002 e MP1001 sono stati usati negli esperimenti:

MP1002



MP1001



Ratti maschi Sprague Dawley (210-220 g di peso) sono stati mantenuti a dieta standard di laboratorio integrata di "Pellet Nossan" (sia gli animali, sia le pellet sono disponibili da Nossan Company, Milano, Italia) ed ospitati per tre settimane (umidità relativa  $50\% \pm 10\%$ , temperatura  $22^{\circ}\text{C} \pm 1$  ed in ciclo di luce/oscurità di 12 ore/12 ore, con luce iniziale alle h.7,30), prima degli esperimenti; il cibo e l'acqua erano disponibili *ad libitum*.

Prima del trattamento, i ratti sono stati anestetizzati con iniezione intraperitoneale di 380 mg/kg di peso di cloral idrato; una cannula di gui-

da di acciaio inossidabile (dimensione 25) è stata impiantata unilateralmente nella *Substantia Nigra* sotto guida stereotassica ed assicurata al cranio con materiale acrilico dentale.

Agli animali (20 per ciascun gruppo sperimentale) è stato concesso un periodo di recupero di sette giorni prima dell'effettuazione del trattamento; in questo periodo non è stata osservata alcuna alterazione dell'attività motoria o della postura. Le microinfusoini sono state effettuate mediante una siringa Hamilton dal 10  $\mu$ l, collegata mediante un tubo di teflon ad una cannula di iniezione. I composti o il veicolo (NaCl allo 0,8%) sono stati iniettati in volume totale di 1  $\mu$ l/minuto.

La microinfusione di 50  $\mu$ g di paraquat nella *Substantia Nigra* (n = 20 ratti) ha determinato un incremento dell'attività motoria con gli animali che effettuavano salti e si muovevano in circolo in direzione controlaterale alla posizione di iniezione, circa 24 minuti più tardi; tutti gli animali sono morti dopo  $24 \pm 2,5$  ore dall'infusione. Ulteriori venti animali sono stati infusi con paraquat e venti con paraquat più veicolo; circa dieci degli animali per ciascun gruppo sono sopravvissuti dopo



20 ore dal trattamento e sono stati utilizzati per determinare lo sviluppo di perossidazione lipidica nella *Substantia Nigra*.

Quando il paraquat (50  $\mu$ g) è stato simultaneamente microinfuso nella *Substantia Nigra* con 1  $\mu$ g di MP1002 o MP1001, tutti gli animali sono sopravvissuti per ulteriori 24 ore e non si sono osservati segni di alterazioni durante continuo monitoraggio (vedasi tabella 1). Risultati simili sono stati ottenuti dopo somministrazione intraperitoneale degli antiossidanti, dimostrando così la straordinaria capacità di MP1002 o di MP1001 di attraversare la barriera ematoencefalica (BBB), uno dei fattori più limitanti dei convenzionali antiossidanti (unitamente alla loro selettività in relazione ad uno specifico tipo di radicale) per scopi terapeutici in patologie neurodegenerative.

In particolare, nessuno dei ratti è morto quando (1) pretrattati per via intraperitoneale con 120 mg/kg in peso di MP1002 o MP1001 5 minuti prima della microinfusione di 50  $\mu$ g di paraquat; (2) simultaneamente trattati con iniezione intraperitoneale con 120 mg/kg in peso di MP1002 o di MP1001 ed infusi con 50  $\mu$ g di paraquat; e (3) microinfusi con



50 di paraquat seguito da iniezione intraperitoneale con 120 mg/kg di peso di MP1002 o di MP1001 5 minuti più tardi (vedasi tabella 1).

La perossidazione lipidica nella *Substantia Nigra* è stata determinata mediante quantizzazione del rilascio di malondialdeide (MDA), utilizzata come biomarker, mediante il reagente di acido tiobarbiturico-TCA-HCl come descritto da Buege J.A. & Aust S.D. *Meth. Enzymol.* 52, 302-310, 1978. La tabella 1 illustra chiaramente l'incremento di perossidazione lipidica nella *Substantia Nigra* in un gruppo addizionale di animali (circa dieci) sopravvissuti 20 ore dopo l'infusione con 50 µg di paraquat o paraquat e soluzione salina. Il trattamento con MP1002 o MP1001 nelle diverse situazioni (prima, assieme o dopo l'infusione con paraquat) riduceva marcatamente e significativamente ( $p < 0,01$ ) la perossidazione lipidica nella *Substantia Nigra*, indicando chiaramente l'elevata potenza antiossidante di questi composti.

In questi esperimenti, sia la somministrazione intracerebrale sia la somministrazione periferica di MP1002 o MP1001, due tipi di antiossidanti qui descritti, protegge totalmente contro effetti comportamentali e neuropatologici indotti da paraquat

nei ratti. Questi risultati dimostrano la capacità dei composti secondo l'invenzione di attraversare facilmente la barriera ematoencefalica, così proteggendo i neuroni dopaminergici della *Substantia Nigra* contro danni degenerativi (ad esempio OSS) prodotti da erbicidi, quali il paraquat. Questo rappresenta un utile approccio per il trattamento di diverse patologie neurodegenerative, incluso il morbo di Parkinson.

#### Esempio 2

Il modello *in vivo* di lesione miocardica da ischemia e riperfusione è stato selezionato come il più idoneo verificare l'efficacia dei composti MP1002 e MP1001 secondo l'invenzione.

Ratti maschi Sprague Dawley (220-230 g) sono stati mantenuti a dieta standard di laboratorio supplementata di "Pellet Nossan" (Nossan Company, Milano, Italia) ed ospitati per tre settimane prima degli esperimenti (umidità relativa  $50\% \pm 10$ , temperatura  $22^{\circ}\text{C} \pm 1$  e ciclo di luce/oscurità di 12/12 ore con inizio di luce alle h.7,30); il cibo e l'acqua erano disponibili *ad libitum*.

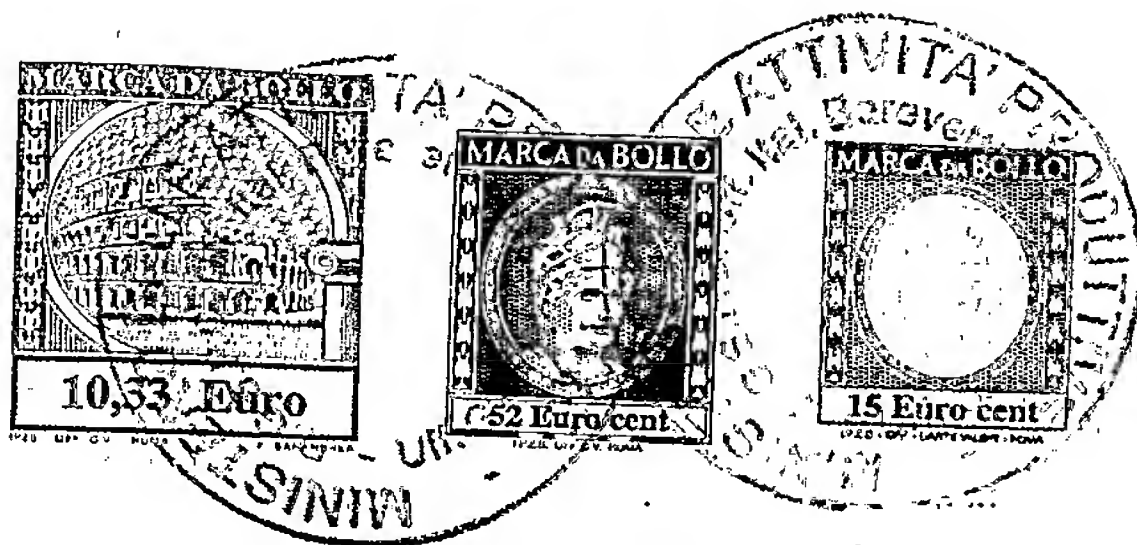
I ratti (venti per ciascun gruppo) sono stati anestetizzati con iniezione intraperitoneale di cloral idrato (380 mg/kg) e quindi sono stati tra-

cheotomizzati, intubati e ventilati con aria ambiente da un idoneo ventilatore; la temperatura corporea è stata mantenuta a  $38^{\circ}\text{C} \pm 1$  e l'arteria carotide destra è stata cannulata e connessa ad un trasduttore di pressione allo scopo di monitorare la pressione sanguigna arteriosa media (MAP).

La vena giugulare destra è stata cannulata per la somministrazione dei composti, si è effettuata una toracotomia laterale, il cuore è stato sospeso in una culla pericardica temporanea ed un occlusore a laccio è stato disposto attorno all'arteria coronarica sinistra discendente (LAD); si è lasciato che gli animali si stabilizzassero per 40 minuti prima della legatura LAD.

L'arteria coronarica è stata occlusa stringendo l'occlusore, una procedura correlata con tipiche alterazioni elettrocardiografiche ed emodinamiche (caduta di MAP) dell'ischemia miocardica. Dopo 25 minuti di ischemia miocardica, l'occlusore è stato riaperto permettendo la riperfusione per 2 ore. Il battito cardiaco (HR) e MAP sono stati continuamente monitorati.

Dopo 2 ore di riperfusione, l'arteria coronarica è stata riocclusa e si è iniettato il colorante Blu di Evans (4,5 ml al 2% p/v) nel ventricolo si-



nistro, mediante la cannula dell'arteria carotide destra, per discriminare tra sezioni perfuse e non perfuse (AAR) del cuore: la soluzione di Blu di Evans colora il miocardio perfuso, mentre il letto vascolare occluso resta non colorato.

Quindi i ratti sono stati sacrificati con un'overdose di anestetico, si è rimosso il cuore che è stato sezionato in fette (3-4 mm), si è rimossa la parete ventricolare destra e l'area a rischio (rossa) è stata separata dall'area non ischemica (blu). L'area a rischio è stata tagliata in piccoli pezzi ed incubata con p-nitro blu di tetrazolio (NBT, 0,48 mg/ml) per 20 minuti a 37°C: in presenza di enzimi intatti di deidrogenasi (miocardio vitale), il NBT forma un formazano blu scuro, mentre l'area di necrosi senza attività di deidrogenasi non si colora. I pezzi sono stati separati secondo la loro colorazione e pesati per determinare la dimensione dell'infarto come percentuale del peso di AAR.

Sono stati considerati i seguenti gruppi sperimentali: a) occlusione LAD (25 minuti) e riperfusione (2 ore) più somministrazione del veicolo (soluzione salina, 3 ml/kg - v - bolus plus 1,8 ml/kg/h), con inizio 5 minuti dopo riperfusione e mantenimento durante il periodo di riperfusione; b) oc-

clusione LAD e riperfusione più somministrazione di MP1002 o di MP1001 (10 mg/kg di iniezione in bolo) a 5 minuti prima della riperfusione, seguita da un'infusione di 2 mg/kg/h durante il periodo di riperfusione; c) operazione sham (nessuna occlusione LAD) ed infusione del veicolo; d) operazione sham ed infusione di MP1002 o MP1001 come precedentemente descritta.

La malondialdeide (MDA) nel tessuto cardiaco come prodotto finale di perossidazione dei lipidi di membrana cellulare è stata anche determinata come precedentemente descritto.

Nella tabella 2 sono riportati i valori di MAP e HR, misurati durante il corso degli esperimenti. I risultati emodinamici di base erano simili nei diversi gruppi considerati.

Negli animali sham operati (nessuna occlusione LAD) l'infusione del veicolo o veicolo con MP1002 o MP1001 non aveva sostanziali effetti emodinamici.

Negli animali sottoposti ad occlusione e riperfusione coronarica, i valori medi di MAP si riducevano lievemente durante il periodo sperimentale, ma non vi erano alterazioni nell'HR. Inoltre, i valori medi di MAP e HR dei ratti sottoposti a trattamento I/R (ischemia/riperfusione) e trattati con MP1002 o



MP1001 non erano significativamente diversi dal gruppo I/R trattato con il solo veicolo.

L'infusione di MP1002 o MP1001 ha determinato una significativa riduzione ( $p < 0,01$ ) della dimensione di infarto (80% e 78%, rispettivamente) quando confrontata con il controllo (fig.1). L'operazione sham non è risultata in un grado significativo di infarto. Mentre il trattamento I/R determinava un marcato e significativo incremento ( $p < 0,01$ ) nella perossidazione lipidica, a confronto con i ratti sham-(più veicolo o antiossidante)-operati, il trattamento con MP1002 o MP1001 riduceva significativamente ( $p < 0,01$ ) lo sviluppo di perossidazione a livelli simili a quelli degli animali sham-operati (fig.2), testimoniando così l'elevato potenziale antiossidante di questi composti.

Questi esperimenti dimostrano che MP1002 o MP1001 sono in grado di ridurre drasticamente la dimensione di infarto miocardico dopo occlusione e riperfusione del miocardio. Questi risultati dimostrano la capacità dei composti dell'invenzione di esercitare un elevato effetto protettivo contro lesione miocardica indotta da ischemia-riperfusione.

Ciò suggerisce che i composti dell'invenzione offrono un nuovo approccio terapeutico per il trat-

tamento di malattie che minacciano la vita, incluse  
malattie ischemiche cardiache.

TABELLA 1 - Effetti di bis(1-ossile-2,2,2,6-tetrametil-4-piperidinil)decandioato (MP1002) o di bis(1-idrossile-2,2,2,6-tetrametil-4-piperidinil)decandioato (MP1001) su latenza, durata dell'attacco, mortalità e sviluppo della perossidazione lipidica nei ratti che ricevono paraquat nella Substantia Nigra

Trattamento	Latenza (min)	Durata (min)	Mortalità (%)	Perossidazione lipidica (nmoli MDA x h <sup>-1</sup> x mg prot <sup>-1</sup> )
Controllo	0	0	0	3,8 ± 0,76
Paraquat*	25 ± 4	270 ± 15	100 (20/20)	14,6 ± 1,34**
Paraquat + veicolo*	25 ± 6	266 ± 17	100 (20/20)	13,5 ± 1,10**
Paraquat + MP1002 <sup>a</sup>	nessun attacco né scariche epilettiche	nessun attacco né scariche epilettiche	0	4,3 ± 0,63**
Paraquat + MP1001 <sup>a</sup>	nessun attacco né scariche epilettiche	nessun attacco né scariche epilettiche	0	5,4 ± 0,84**
Paraquat + MP1002 <sup>b</sup>	nessun attacco né scariche epilettiche	nessun attacco né scariche epilettiche	0	5,2 ± 0,75**
Paraquat + MP1001 <sup>b</sup>	nessun attacco né scariche epilettiche	nessun attacco né scariche epilettiche	0	4,7 ± 0,49**
Paraquat + MP1002 <sup>c</sup>	nessun attacco né scariche epilettiche	nessun attacco né scariche epilettiche	0	4,9 ± 0,86--
Paraquat + MP1001 <sup>c</sup>	nessun attacco né scariche epilettiche	nessun attacco né scariche epilettiche	0	5,1 ± 0,94**
Paraquat + MP1002 <sup>d</sup>	nessun attacco né scariche epilettiche	nessun attacco né scariche epilettiche	0	4,1 ± 0,39**
Paraquat + MP1001 <sup>d</sup>	nessun attacco né scariche epilettiche	nessun attacco né scariche epilettiche	0	4,8 ± 0,57**

Nella tabella 1 ciascun valore rappresenta la media ± SD di venti diversi esperimenti effettuati su venti differenti ratti; a) animali che hanno ricevuto con microinfusione simultanea nella Substantia Nigra, paraquat (50 µg) con 1 µg di MP1002 o di MP1001; b) animali pretrattati intraperitonealmente con 120 mg/kg in peso di MP1002 o di MP1001 e che, dopo 5 minuti, che hanno ricevuto paraquat (50 µg) tramite microinfusione; c) animali che hanno ricevuto simultaneamente 50 µg di paraquat tramite microinfusione con 120 mg/kg in peso di MP1002 o di MP1001 con iniezione intraperitoneale; d) animali che hanno ricevuto 50 µg di paraquat tramite microinfusione e, 5 minuti più tardi, 100 mg/kg in peso di MP1002 o di MP1001 con iniezione intraperitoneale.

L'infusione del veicolo nello stesso sito non ha prodotto alcun effetto nelle modifiche comportamentali e nella mortalità correlate al paraquat. Nella tabella sono inoltre riportati i le variazioni di perossidazione lipidica nella Substantia Nigra come livelli di malondialdeide (MDA) dopo 24 o 20(\*) ore dal trattamento. Vedasi il testo per dettagli e procedimenti sperimentali.

\*\*p < 0,01 paraquat o paraquat + veicolo contro controllo e paraquat + veicolo contro gruppi MP1002 o MP1001-trattati (metodo di classificazione Wilcoxon).



11.11.84

**TABELLA 2 - Effetti degli antiossidanti MP1002 e MP1001 sulle variazioni della pressione sanguigna arteriosa media (MAP) e battito cardiaco (HR) nell'ischemia miocardica e riperfusione (I/R) nel ratto**

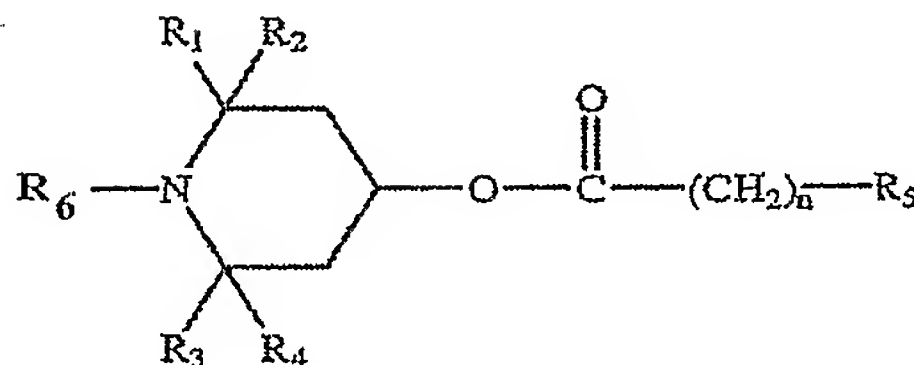
Gruppo	Linea di base	Occlusione (min)		Riperfusione (min)	
		15	25	15	25
Sham + veicolo	MAP	128 + 12	126 + 14	118 + 10	112 + 9
	HR	425 + 25	429 + 26	426 + 21	431 + 23
Sham + MP1002	MAP	125 + 15	123 + 16	102 + 11	110 + 12
	HR	421 + 26	420 + 33	422 + 25	428 + 26
Sham + MP1001	MAP	127 + 16	125 + 13	121 + 11	112 + 8
	HR	422 + 33	422 + 26	424 + 48	427 + 27
I/R + veicolo	MAP	128 + 10	121 + 12	113 + 10	101 + 12
	HR	445 + 34	440 + 31	436 + 27	434 + 28
IR/ + MP1002	MAP	127 + 14	121 + 14	114 + 10	102 + 11
	HR	438 + 30	437 + 32	431 + 24	427 + 29
IR/ + MP1001	MAP	125 + 9	118 + 12	111 + 13	100 + 10
	HR	435 + 25	438 + 31	430 + 28	425 + 28

Ciascun valore rappresenta la media + SD di almeno quindici differenti esperimenti.  
 Gli animali che hanno ricevuto MP1002, MP1001 o un volume uguale di veicolo.  
 Vedasi testo per dettagli e procedimenti sperimentali.

## RIVENDICAZIONI

1. Impiego di un composto di formula:

(I)

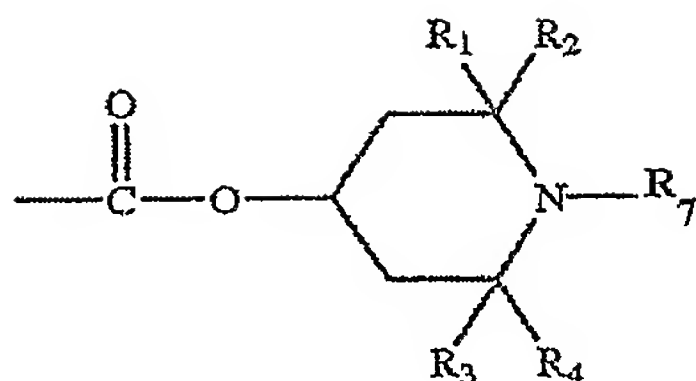


in cui:

in cui R<sub>6</sub> è ossile, idrogeno o ossidrile, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> e R<sub>4</sub> indipendentemente l'uno dall'altro sono scelti tra:

- idrogeno
  - alchile avente da 1 a 12 atomi di carbonio,
  - alchenile avente da 2 a 12 atomi di carbonio,
  - alchinile con da 2 a 12 atomi di carbonio, oppure
  - R<sub>1</sub> e R<sub>2</sub> assieme sono tetrametilene o pentametilene;
  - R<sub>5</sub> è idrogeno,
  - alchile avente da 1 a 12 atomi di carbonio,
  - cicloalchile avente da 3 a 8 atomi di carbonio,
  - alchenile avente da 2 a 12 atomi di carbonio,
  - alchinile avente da 2 a 12 atomi di carbonio,
- oppure





(II)

in cui

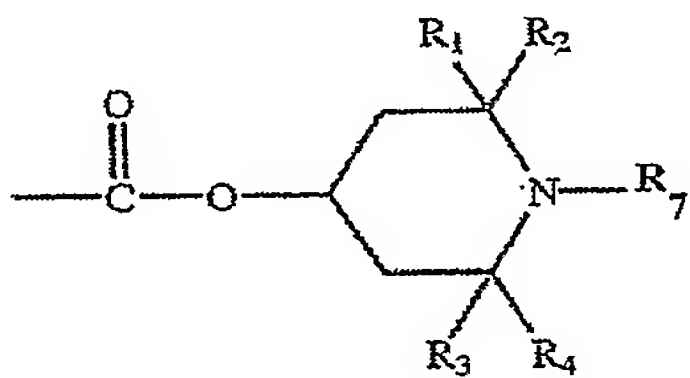
$R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  e  $R_4$  sono come precedentemente definiti,

$R_7$  è uguale o differente a  $R_6$  ed è scelto tra idrogeno, ossile o ossidrile, e

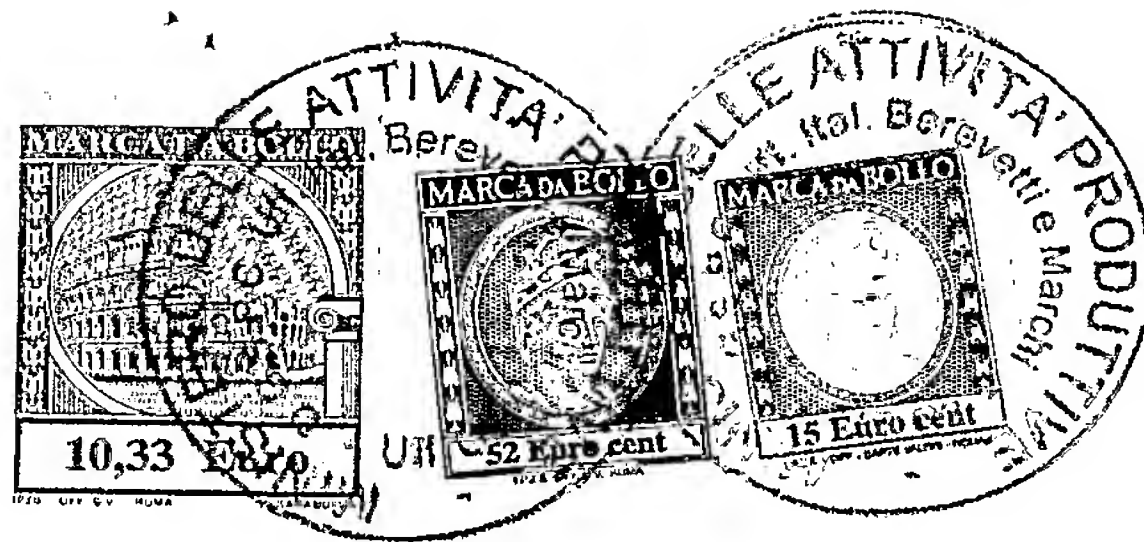
$n$  è un intero da 1 a 30,

per la preparazione di una composizione farmaceutica per uso veterinario o umano o di un medicamento per il trattamento terapeutico o di profilassi di malattie neurodegenerative.

2. Impiego secondo la rivendicazione 1, in cui nelle formule (I)  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  e  $R_4$  sono, indipendentemente l'uno dall'altro, un alchile avente da 1 a 6 atomi di carbonio,  $R_6$  è idrogeno, ossile o ossidrile e  $R_5$  è:

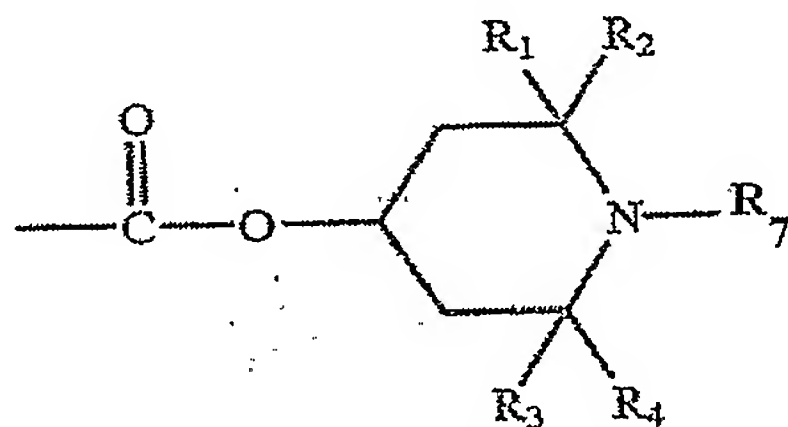


(II)



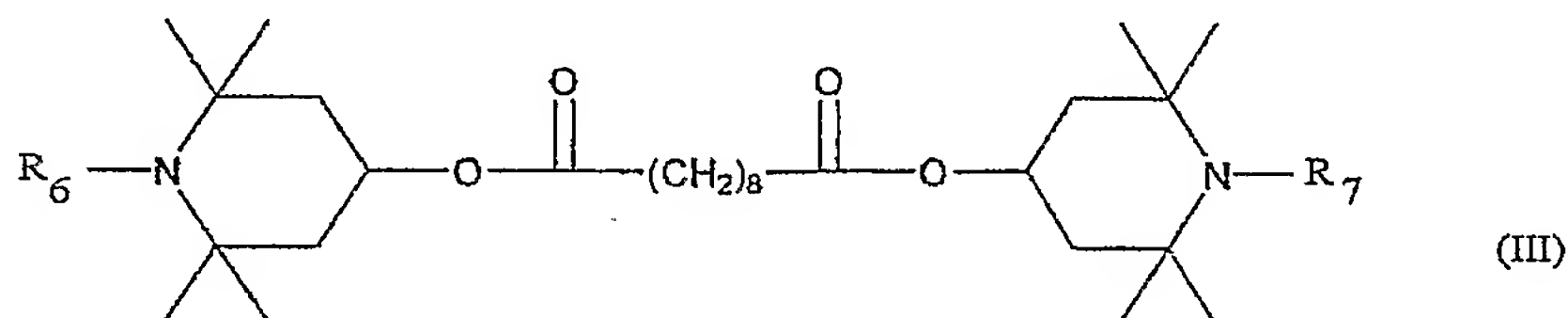
in cui  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  e  $R_4$ , indipendentemente l'uno dall'altro sono un alchile avente da 1 a 6 atomi di carbonio e  $R_7$  è ossile, idrogeno o ossidrile e  $n$  è un numero intero da 2 a 14.

3. Impiego secondo le rivendicazioni 1 o 2, in cui  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  e  $R_4$  sono, indipendentemente l'uno dall'altro, un alchile avente da 1 a 3 atomi di carbonio e  $R_5$  è:



in cui  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  e  $R_4$  sono, indipendentemente l'uno dall'altro, un alchile avente da 1 a 3 atomi di carbonio,  $R_7$  è ossile, idrogeno o ossidrile e  $n$  è un numero intero da 6 a 10.

4. Impiego secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 a 3, in cui detto composto è di formula:



in cui  $R_6$  e  $R_7$  sono uguali o differenti e sono

scelti tra ossile, idrogeno o ossidrile.

5. Impiego secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 a 4, in cui detta malattia neurodegenerativa è scelta tra morbo di Parkinson, morbo di Alzheimer, lesione cerebrale da ischemia-riperfusione, lesione cerebrale traumatica, neuropatia da HIV, sindrome di Down, polineuropatia diabetica, distrofia muscolare, sclerosi multipla, malattia di Huntington, malattia prionica, discinesia tardiva, tauopatia, patologie demielinanti e sindrome di Lou Gherig.

6. Impiego di un composto come identificato in una qualsiasi delle rivendicazioni 1 a 4, per il trattamento di patologie scelte tra lesione da ischemia-riperfusione nel cuore, rene, polmone, fegato ed intestino, ipertensione, diabete, cancro, shock, fibrosi cistica, infezioni da virus, tossicità da farmaci o radiazioni (radioterapia o radioprotezione), infiammazione, epilessia, aterosclerosi, invecchiamento, iperlipidemia, ipercolesterolemia, artrite reumatoide e per il trattamento del dolore o della sepsi.

7. Impiego secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui detta composizione farmaceutica o veterinaria o medicamento è idonea per

somministrazione orale, parenterale, inalatoria o topica.

8. Impiego secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui detta composizione farmaceutica o veterinaria o medicamento è in forma di dosaggio idoneo per la somministrazione di detto composto in quantità da 0,01 a 200 mg/kg di peso corporeo, preferibilmente da 0,5 a 20 mg/kg di peso corporeo.

9. Composizioni farmaceutiche comprendenti una quantità antiossidante efficace di un composto di formula (I) come definito in una qualsiasi delle rivendicazioni 1 a 4, in cui  $R_6$  è idrogeno o ossile e  $R_7$ , se presente, è uguale a o differente da  $R_6$  ed è scelto tra ossile, idrogeno e ossidrile ed un veicolo fisiologicamente accettabile per somministrazione all'uomo o all'animale.

10. Composizione farmaceutica comprendente una quantità antiossidante efficace di un composto di formula (I), come definito nella rivendicazione 1, in cui  $R_5$  è un gruppo di formula (II) ed ove  $R_6$  e  $R_7$ , indipendentemente l'uno dall'altro, sono scelti tra idrogeno, ossile ed ossidrile, purché entrambi  $R_6$  e  $R_7$  non siano ossidrile, ed un veicolo fisiologicamente accettabile per somministrazione all'uomo

o all'animale.

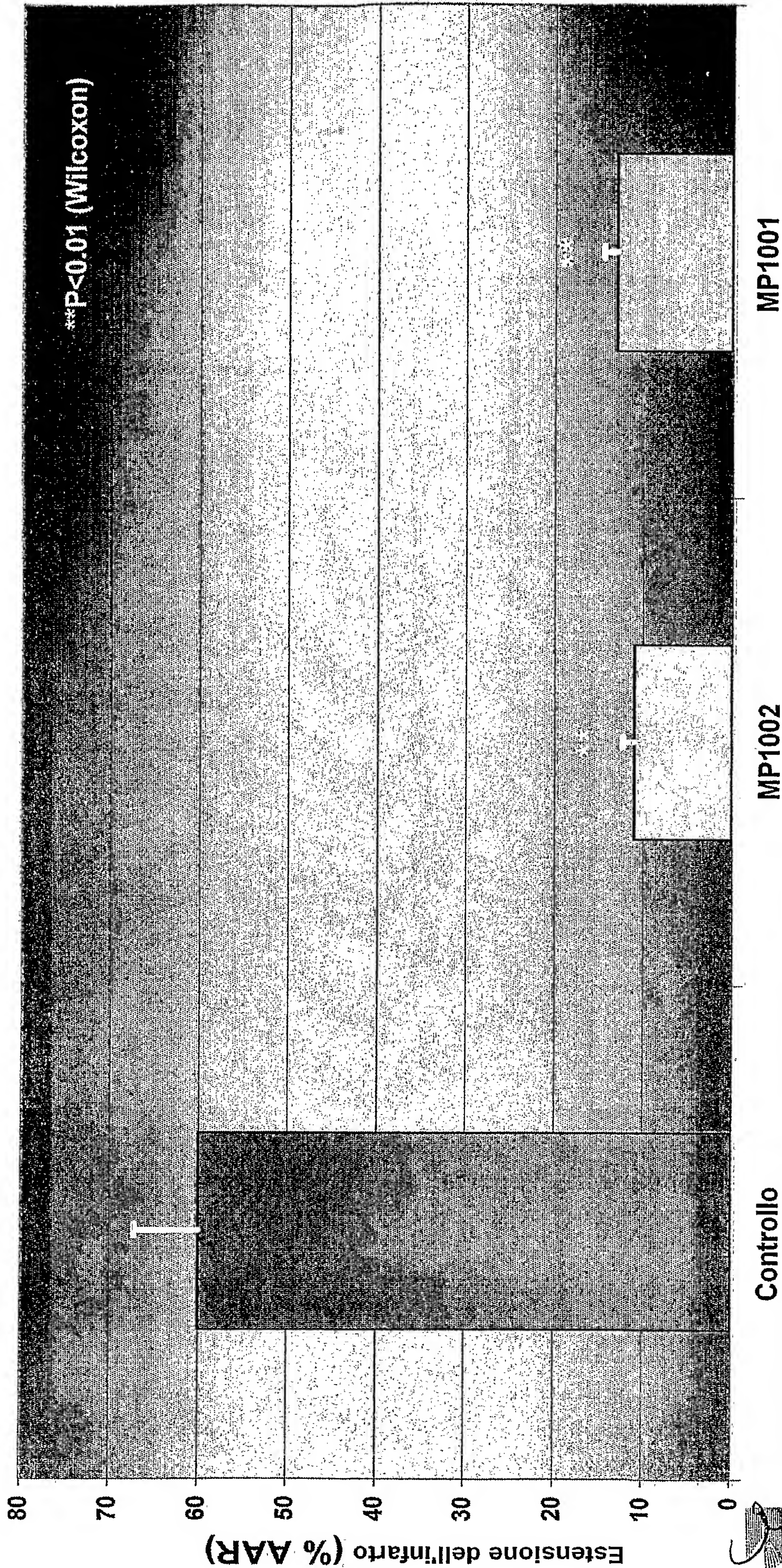
del 10/10/1968  
CORRADO FIORAVANTI  
(scr. no. 0658/M)

 CAMERA DI COMMERCIO  
INDUSTRIA ARTIGIANATO E AGRICOLTURA  
DI TORINO

JACOBACCI & PARTNERS S.p.A.



**Fig.1 - EFFETTI DEGLI ANTIOSSIDANTI MP1002 E MP1001 SULL'ESTENSIONE DELL'INFARTO MIOCARDICO DOPO OCCLUSIONE E RIPERFUSIONE DELL'ARTERIA CORONARIA DISCENDENTE ANTERIORE SINISTRA (LAD) NEL RATTO**

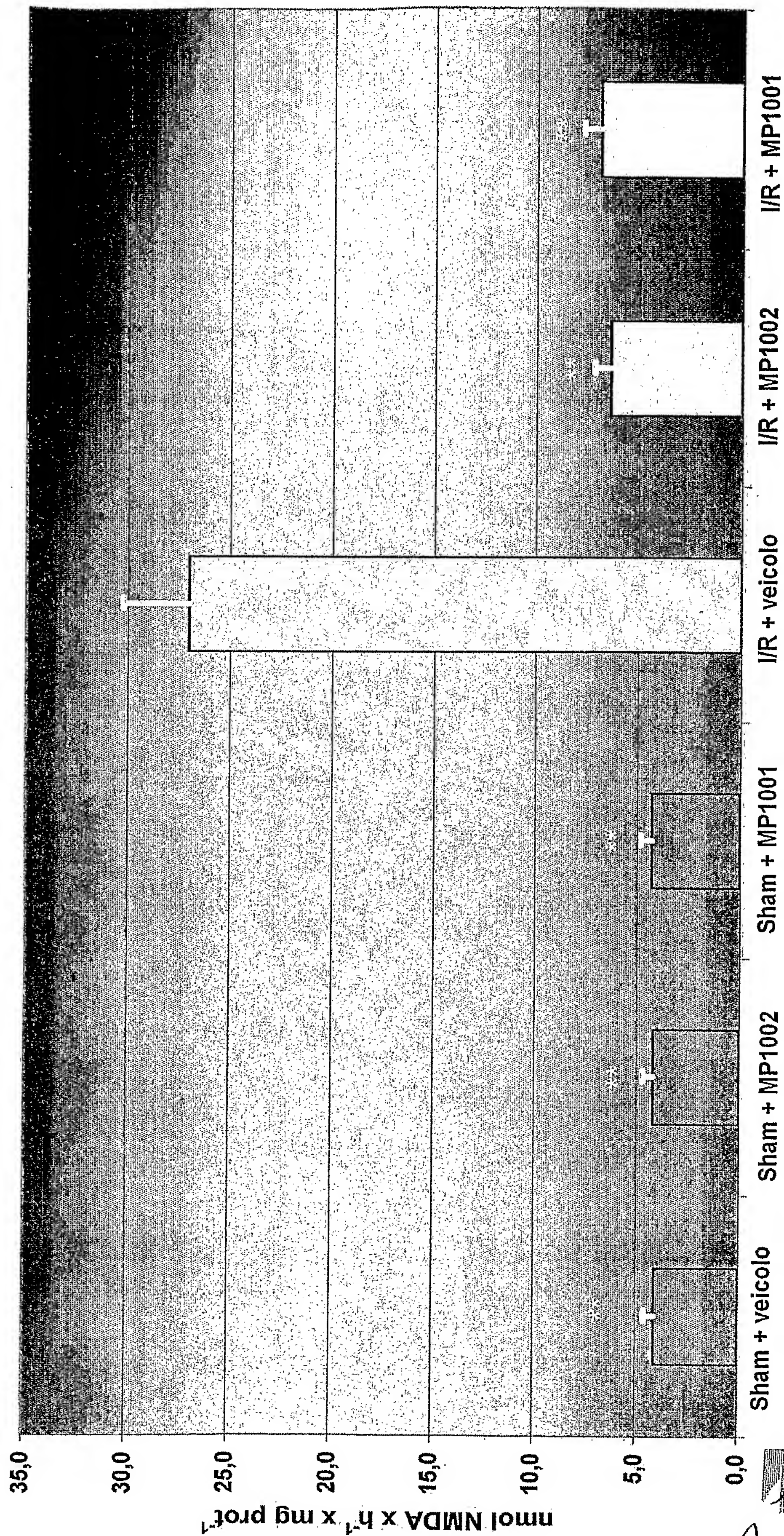


Ciascun valore rappresenta la media  $\pm$  SD di almeno quindici diversi esperimenti. I diversi gruppi di animali sono stati sottoposti ad occlusione LAD ed hanno ricevuto 5 minuti dopo l'inizio della riperfusione il veicolo (soluzione salina - controllo), MP1002 o MP1001





**Fig.2 - EFFETTI DEGLI ANTIOSSIDANTI MP1002 E MP1001 SULLO SVILUPPO DI PEROSSIDAZIONE LIPIDICA NELL'ISCHEMIA MIOCARDICA E RIPERFUSIONE (I/R) NEL RATTO**



Ciascun valore rappresenta la media  $\pm$  SD di almeno quindici esperimenti. \*\*P<0,01 quando confrontato con I/R + veicolo (metodo Wilcoxon)